LE LIQUIDE CEPHALORACHIDIEN

APPLICATIONS EN MICROBIOLOGIE

I.INTRODUCTION

L'examen cytobactériologique du LCR : fréquent en pathologie infectieuse, méningites aigues +++
CYTOLOGIE-MICROBIOLOGIE-BIOCHIMIE
ORIENTATION RAPIDE DU CLINICIEN FACE A UNE URGENCE INFECTIEUSE DU SNC
la gravité potentielle de ce type de pathologie =) règles de bonnes pratiques aussi bien en matière de prélèvement que d'exécution des analyses +++

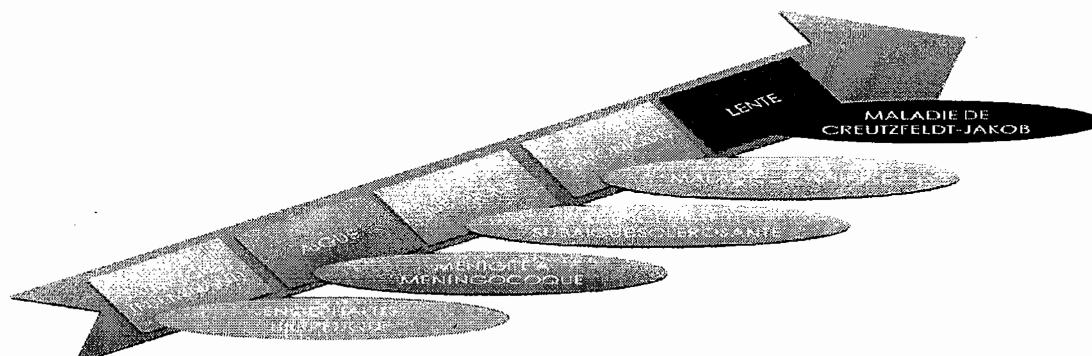
LE LCR: composition cyto-chimique du LCR lombaire normal

ASPECT	CYTOLOGIE	BIOCHIMIE
Clair en eau de roche	**ADULTE : Moins de 5 leucocytes / mm3, lymphocytes** **Nourrisson : 10-30 leucocytes/mm3 dont 50% de polynucléaires neutrophiles**	**Glycorachie : 50 à 75% de la glycémie.** **Protéinorachie : inf. à 0.45 g/L** **Chlorures : 110 à 130 mmol/L** **Sodium : 147 mmol/L** **pH : 7,3**

IV.GENERALITES SUR LES PATHOLOGIES INFECTIEUSES DU SNC

A) CLASSIFICATION DES INFECTIONS DU SNC:

- **TOPOGRAPHIE LESIONELLE :** MENINGITES , ENCEPHALITES , MYELITE , Atteintes multiples, suppurations
- **PROFIL EVOLUTIF**



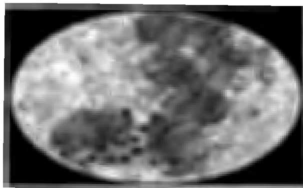
- **AGENT PATHOGENE :** virus , bacterie , prions , protozoaire , parasite , mycètes
- **LIEU D'ACQUISITION :** communautaire (ville) , associée aux soins **, iatrogènes**
- **ASPECT MACROSCOPIQUE DU LCR** : méningites a liquide clair , méningites purulentes
- **FORMULE CYTOLOGIQUE DU LCR :** méningite lymphocytaire , méningite a polynucléaires neutrophiles.

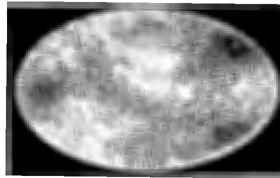
B) PRINCIPAUX AGENTS ETIOLOGIQUES DES MENINGITES :

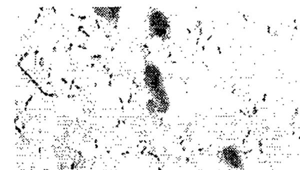
1) LES MENINGITES BACTERIENNES

1.1) LES MENINGITES PURULENTES COMMUNAUTAIRES

elles sont a l'origine de méningites purulentes le plus souvent , cependant certains genres bactériens comme Mycobacterium ou Listeria donnent des méningites lymphocytaires voire panachés





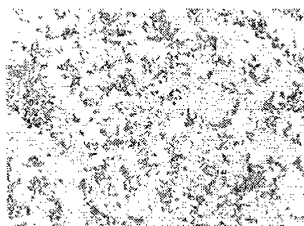


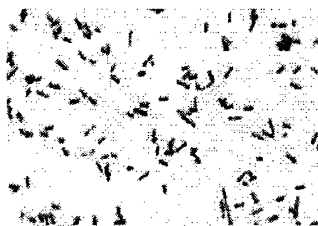
__Neisseria meningitidis (MENINGOCOQUE) :__ a l'origine de la méningite cérébrospinale , il est retrouvé a tout âge a partir du 3ème moi de vie, le principal groupe de méningocoque retrouvé en Algérie sont le méningocoque A à potentiel épidémique et les groupes B et C.

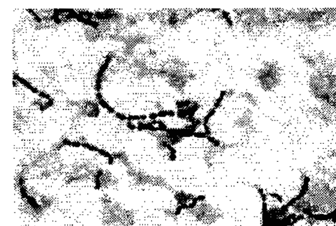
__Haemophilus influenzae :__ le groupe b est le plus incriminé , cependant la vaccination anti-Haemophilus influenzae b (HIb) a changé l'épidémiologie des infections causées par se germe. Il est surtout retrouvé chez l'enfant de moins de 2 ans et a moindre fréquence jusqu'à l'âge de 5 ans.

__Streptococcus pneumoniae (PNEUMOCOQUE) :__ le plus souvent retrouvé aux extrémités d'âgé (enfant et sujet âgé) , on trouve souvent un portage sain chez l'enfant. La notion de "porte d'entrée" est fréquemment trouvée (otite , sinusite , traumatisme crânien , brèche ostéoméningée...)

Les agents bactériens des méningites néonatales : il s'agit de germes transmis de la mère a l'enfant pendant la grossesse ou lors de l'accouchement, 3 principales bactéries sont incriminés :







1.2) __LES MENINGITES PURULENTES LIES AUX SOINS :__ les agents bactériens hospitaliers sont retrouvés : Entérobactéries , Pseudomonas aeruginosa , Acinetobacter baumanii , Staphylococcus spp...

1.3) __LES MENINGITES LYMPHOCYTAIRES (LIQUIDE CLAIR) :__ parmi les agents incriminés on retrouve : Mycobactérium tuberculosis , Listeria monocytogenes , Brucella melitensis Leptospira interrogans , Treponema pallidum

2) LES MENINGITES VIRALES

plusieurs virus possèdent sont neurotropes et peuvent provoquer au cours ou au décours de la maladie une méningite , on retrouve principalement :

* Paramyxovirus parotidis (virus ourlien)
* Les Entérovirus non polio
* les Herpesviridae des genres Herpès simplex virus (HSV-1 et 2) et Varicelle-Zona virus

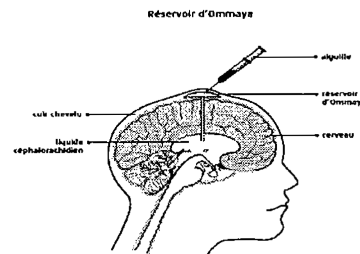
*Affection le plus souvent bénignes hormis méningo-encéphalite herpétique

V.CONDUITE DE L'ECB DU LCR :

1. Les étapes pré analytiques

les indications : ANESTHESIE / THERAPEUTIQUE
*INFECTIEUSES : MENINGITE , MENINGO-ENCEPHALITE ,MYELITE
*MALADIES INFLAMMATOIRES
*PATHOLOGIES MALIGNES
*PATHOLOGIES METABOLIQUES

Contre-indications
*Insuffisance cardio-respiratoire
*Signes d'engagement cérébral
*anomalies de la coagulation
*antécédents de lombaire
*signes neurologiques de focalisation





le prelevement
le LCR est un prélèvement précieux et le geste est invasif et traumatique , le plus grand soin est ainsi requis dans l'exécution de cette tache.
Le LCR est prélevé par ponction lombaire (PL) dans l'espace intervertébrale L4-L5 , plus rarement L3-L4 ou L5-S1.
Chez le nouveau né et dans des situation exceptionnelles , le prélèvement se fait par ponction transfontanellaire ou par ponction ventriculaire directe

La quantité prélevée doit être la plus minimale possible (règle générale 3 a 4 tubes secs stériles en plastic ou verre contenant chacune 1 millilitre de LCR correspondant a 20 gouttes approximativement) sont recueillis respectivement pour la microbiologie , la cytologie , la biochimie et un tube en réserve en cas de perte de l'un des échantillons (facultatif)

Au cours de l'opération ,le praticien note l'aspect macroscopique du LCR :

* Clair en eau de roche (normal /lymphocytaire)
* Xanthochromique (ictère , syndrome de Froin)
* Hématique voire hémorragique (traumatisme lors de la PL ou une hémorragie méningée)
*Purulent

a ce stade, le clinicien peut :
Pratiquer une épreuve de coagulabilité en laissant le LCR a température ambiante quelques minutes , en cas de syndrome de Froin ou de traumatisme consécutif au geste , le LCR coagule par présence de fibrinogène.
Pratiquer l'épreuve des trois tubes dont le principe consiste a recueillir le LCR sur trois tubes , en cas d'hémorragie méningée les 3 tubes restent teintés et incoagulables mais dans le d'un traumatisme lié

a la PL le liquide s'éclaircit progressivement. (de plus en plus abandonnée en faveur de la centrifugation

RENSEIGNEMENTS ET ACHEMINEMENT AU LABORATOIRE:

Les tubes doivent être étiquetés avec soin et porter les identifiants du malade (nom , prénom , N° d'enregistrement) .

Une fiche de renseignement doit obligatoirement accompagner le prélèvement au risque qu'il soit refusé, elle doit être correctement remplie , Souvent banalisée , les étapes analytiques son tributaires des informations fournies par le clinicien :

*nom, prénom, Age , provenance du prélèvement et son N° d'enregistrement du patient

*un résumé clinique et le diagnostic évoqué

* Les traitements anti-infectieux en cours

*toute information susceptible d'influencer l'analyse (état physiopathologiques , notion d'épidémie familiale , notion de voyage...)

* En cas de recherches particulières (recherche d'anticorps , recherche virale ...) , le clinicien doit le mentionner .

L'acheminement au laboratoire doit se faire A TEMPERATURE AMBIANTE , SANS DELAIS.a défaut il peut être conservé dans une étude a 35° mais pour une durée très limitée en raison de la fragilité des germes.

2) ETAPES ANALYTIQUES :

1er JOUR: Immédiatement après sa réception, le LCR subit :

A) Une observation macroscopique: comme décrit plus haut

B) Une culture : afin d'éviter toute contamination par les étapes ultérieures ,le LCR est tout d'abord ensemencé sur des milieux solides et liquides enrichis :gélose au sang frais , gélose au sang cuit , Bouillons d'enrichissement ... des milieux spéciaux ainsi qu'un antibiogramme d'urgence sont ajouté selon l'orientation fournie par les tests microbiologiques préliminaires.

C) Un examen microscopique : incluant la cytologie et les colorations

C.1) La cytologie : il s'agit d'un état frais pratiqué" sur une cellule hématimétrique , le biologiste dénombre les polynucléaires , les lymphocytes et les hématies. En plus , on note l'aspect altéré ou non des polynucléaires , la présence de germes, la présence d'hématies crénelés mais aussi de toutes autre élément permettant d'apporter un plus au clinicien.

Le dénombrement est exprimé en leucocyte /mm3

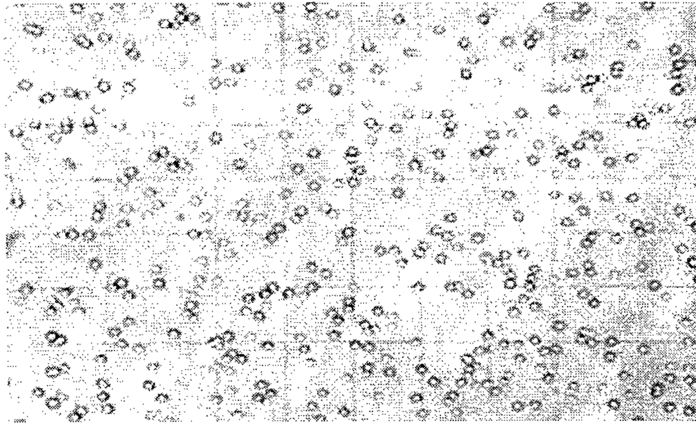
C.2) L'examen après coloration : essentiellement

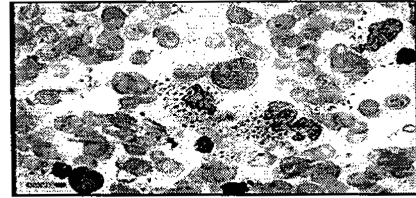
* La coloration MGG : permet d'établir l'équilibre leucocytaire

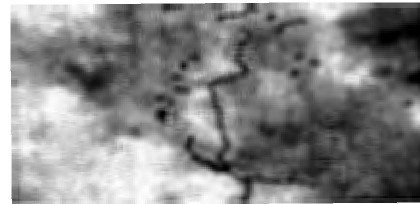
* La coloration au bleu de méthylène : simple , permet d'apprécier la morphologie leucocytaire , d'effectuer un équilibre leucocytaire et de rechercher des bactéries intra/extra cellulaires

* La coloration de Gram : permet d'apprécier l'affinité morpho-tinctoriale des germes , elle est essentielle car oriente rapidement la conduite a tenir du clinicien.

NB : les examens microscopiques sont communiqués au clinicien sans délais dés leurs réalisation.


ETAT FRAIS SUR CELLULE HEMATIMETRIQUE


COLORATION MGG


COLORATION AU BLEU DE METHYLENE

*d'autres recherches peuvent être effectués sur le prélèvement , notamment :

-la recherche des antigènes solubles , qui sont des fragments bactériens libérés lors de leurs lyse et qui sont détectables dans divers liquides biologiques (LCR ,sang ,Urines). Ces tests sont rapides mais posent un soucis en matière de sensibilité et de spécificité.

-La biologie moléculaire qui permet de rechercher a la fois les pathogènes bactériens et viraux mais pose le problème de l'accessibilité au matériel

C.3) Les dosages biochimiques: les plus couramment effectués sont le dosage de la glycorachie (en parallèle a la glycémie) ainsi que la proteinorachie qui signent respectivement une consommation par un microorganisme et une altération des méninges avec fuite protéique

2eme JOUR: orbite autour de la lecture des géloses et des enrichissements en milieu liquides , en cas de croissance , des colorations rapides , identification biochimique et antibiogramme (+ tests complémentaires notamment mesure des concentrations minimales inhibitrices sont effectués)

En tout , l'ECB du LCR prend un minimum de 3 jours pour un rendu complet des examens (tests de sensibilité aux antibactériens inclus)

3) ETAPES POST ANALYTIQUES: concerne la finalisation des résultats et leurs interprétation puis de leurs communication au clinicien. Une collaboration clinicien-biologiste est primordiale pour la validation des analyses.

VI.Conclusion :

En matière de maladies infectieuses , il existe de très nombreuses situations nécessitant un prélèvement de LCR en particulier en cas de méningite qui constituent une pathologie courante qu'il faut savoir diagnostiquer et prendre en charge rapidement.

Il existe une panoplie d'analyses cyto-microbiologiques et biochimiques à la disposition du clinicien qui lui permettent de prendre en charge de manière optimale les patients souffrant d'une pathologie infectieuse du SNC.

Une communication clinicien-biologiste est essentielle pour la bonne conduite de cette prise en charge.